

UDZIAŁ REZYSTYNY W REGULACJI ENDOKRYNNEJ JAJNIKA

PARTICIPATION OF RESISTIN IN OVARIAN ENDOCRINE REGULATION

Sylvia MAREK, Agnieszka RAK-MARDYŁA

Zakład Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, Instytut Zoologii,
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Streszczenie: Tkanka tłuszczowa spełnia m.in. funkcję wyspecjalizowanego narządu endokrynnego. Jest ona źródłem aktywnych biologicznie substancji o działaniu autokrynnym, parakrynnym lub endokrynnym określanych jako adipokiny. Należą do nich hormony metaboliczne, a wśród nich rezystyna. Hormon ten jest polipeptydem należącym do rodziny białek bogatych w cysteinę. Bierze udział w rozwoju insulinooporności i otyłości. Wpływa również na funkcje rozrodcze samic. Ekspresję rezystyny wykryto w licznych tkankach rozrodczych samic tj. podwzgórzu, przysadce, jajniku, jajowodzie i łożysku. Rezystyna wpływa na steroidogenezę i proliferację komórek zarówno małych jak i dużych pęcherzyków jajnikowych. Zwiększa także aktywność 17 α -hydroksylazy w komórkach osłonki wewnętrznej pęcherzyka jajnikowego oraz aktywuje wewnątrzkomórkowe szlaki sygnalizacyjne.

Słowa kluczowe: rezystyna, oś podwzgórze-przysadka mózgowa-jajnik, rozród samic

Summary: Adipose tissue functions i.a. as a highly specialised endocrine organ. It expresses and secretes bioactive peptides termed adipokines, which act locally and distally through autocrine, paracrine and endocrine effects. These peptides include metabolic hormones such as resistin. Resistin is a polypeptide that belongs to a unique family of cysteine-rich C-terminal domain proteins called resistin-like molecules. This hormone plays an important role in the development of insulin resistance and obesity. Resistin is strongly related with female fertility. Its expression was found in hypothalamo-pituitary axis and various female reproductive tissues, ovary, oviduct and placenta. Resistin influences on proliferation and steroidogenesis of theca and granulosa cells from small and large ovarian follicles. Additionally, it enhance 17 α -hydroxylase activity in cultured human theca cells and activate intracellular signaling pathways.

Key words: resistin, hypothalamus-pituitary-ovary axis, female reproduction

WSTĘP

Tkanka tłuszczowa pełni w organizmie złożoną funkcję fizjologiczną. Poza magazynowaniem zapasów energetycznych i rolą termoizolacyjną oraz termoregulacyjną, wykazuje również szerokie działanie metaboliczno – endokrynne [24, 25]. Funkcja wydzielnicza tej tkanki polega na produkcji i sekrecji przez adipocyty do krwioobiegu szeregu aktywnych biologicznie substancji, regulujących procesy fizjologiczne organizmu, zwanych adipocytokinami lub adipokinami [46]. Wydzielone dokrewnie adipokiny mogą działać zarówno lokalnie w obrębie tkanki tłuszczowej, gdzie wykazują aktywność autokrynną lub parakrynną jak i endokrynnie, wpływając regulacyjnie na czynność odległych tkanek i narządów. Adipocytokiny syntetyzowane w tkance tłuszczowej biorą udział w regulacji procesów łaknienia, wpływają na równowagę energetyczną szlaków metabolicznych, rozwój otyłości i na procesy zapalne, są konieczne dla zachowania fizjologicznej homeostazy glukozy oraz regulują wrażliwość na insulinę [25]. Należą do nich między innymi: interleukina 6 (ang. *Interleukin 6*, IL-6), inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 (ang. *Plasminogen Activator Inhibitor type 1*, PAI-1), czynnik martwicy nowotworów α (ang. *Tumor Necrosis Factor α* , TNF- α), angiotensyna II, adiposyna, adiponektyna, leptyna oraz rezystyna [25].

ODKRYCIE REZYSTYNY

Rezystyna została odkryta w 2001 roku przez 3 niezależnie pracujące zespoły badawcze. Zespół Stepan i wsp. [23] zidentyfikował rezystynę podczas badań nad grupą leków hiperglikemizujących tzw. tiazolidinedionów (ang. *Thiazolidinediones* TZDs). Zespół Kim i wsp. [23] wykryli rezystynę jako adipokinę, wytwarzaną przez tkankę tłuszczową. Natomiast Holcomb i wsp. [23] wykazali podobieństwo rezystyny do cząsteczek obecnych w miejscach zapalenia FIZZ1 i określili ją jako FIZZ3 (ang. *Found In Inflammatory Zones*). Nazwa tej adipocytokiny wynika z jej związku z insulinopornością tkanek (ang. *insulin resistance*). Początkowo stosowano również określenie ADSF (ang. *Adipocyte tissue-specific Secretory Factor*, czynnik wydzielniczy specyficzny dla adipocytów), wskazując na związek rezystyny z tkanką tłuszczową [15].

STRUKTURA MOLEKULARNA REZYSTYNY

Rezystyna jest słabo poznaną białkiem o strukturze całkowicie odmiennej od poznanych dotychczas cytokin i hormonów. Obok RELM- α , RELM- β oraz RELM- γ należy do rodziny białek bogatych w cysteinę, określanych jako RELMs (ang. *Resi-*

stin-Like Molecules, cząsteczki podobne do rezystyny). Są to proteiny wydzielnicze, charakteryzujące się specyficzną dystrybucją tkankową i właściwościami sygnalizacyjnymi. Ludzka rezystyna jest hormonem peptydowym o masie cząsteczkowej 12,5 kDa, zbudowanym ze 108 aminokwasów [31]. Występująca głównie na końcu C peptydu, stosunkowo duża ilość cysteiny stanowi morfologiczny wyróżnik całej rodziny RELM [52]. W domenie karboksylowej rezystyny znajduje się 10 reszt cysteiny, między którymi powstaje pięć wiązań disiarczkowych, istotnych w procesie prawidłowego fałdowania tej części białka [40]. W domenie N-końcowej znajduje się jedna reszta cysteiny, która pozwala na utworzenie połączonych wiązaniem disiarczkowym homodimerów rezystyny [2]. W wyniku wzajemnego łączenia się trzech pojedynczych cząsteczek rezystyny powstają trimery. Połączenie dwóch trimerów rezystyny prowadzi do powstania heksamerów rezystyny. Rezystyna występuje we krwi w obu postaciach, z przewagą heksamerów, które stanowią 80 – 90% [28]. Formy oligomeryczne rezystyny różnią się aktywnością biologiczną. Do osiągnięcia pełnej aktywności biologicznej rezystyna wymaga przekształcenia z postaci heksameru do trimery [28]. Gen dla rezystyny (*Retn*) po raz pierwszy zidentyfikowano u myszy [18]. Holcomb i wsp. [18] wysekwencjonowali ludzki gen homologiczny dla genu *Retn* i tak u ludzi gen kodujący rezystynę (*RETN*) zlokalizowany jest na krótkim ramieniu 19. chromosomu, w locus 13.2 i zawiera 4 eksony – pierwszy z nich składa się z około 1750 par zasad. Produkty genu ludzkiego i mysiego wykazują podobieństwo strukturalne na poziomie zaledwie 59 % [16].

OBECNOŚĆ REZYSTYNY W ORGANIZMIE

U człowieka adipocyty biorą niewielki udział w wytwarzaniu rezystyny. Badania Faina i wsp. [11] wykazały, że tylko 2% tego peptydu wydzielają adipocyty, większość hormonu wytwarzają inne komórki budujące ludzką tkankę tłuszczową, które nie są bezpośrednio odpowiedzialne za magazynowanie lipidów. Najważniejszymi miejscami syntezy rezystyny w organizmie ludzkim są komórki zapalne krwi obwodowej, monocyty i makrofagi [39]. Ekspresję rezystyny na poziomie genu i białka wykazano również w jelitach, szpiku kostnym, płucach, komórkach wysp trzustkowych oraz w łożysku (tab. 1). Źródłem rezystyny mogą być także komórki białaczkowe.

Na regulację ekspresji genu rezystyny wpływ mają liczne czynniki: TZDs, insulina, glukoza, glikokortykoidy, GH (ang. *Growth Hormone*, hormon wzrostu, somatotropina), hormony tarczycy, agoniści receptora β -adrenergicznego, cytokiny prozapalne oraz witamina A [38]. Wyniki badań oceniających wpływ tych czynników na ekspresję rezystyny są jednak sprzeczne, w zależności od zastosowanego modelu doświadczalnego. Większość z nich przeprowadzono na adipocytach mysich, zatem biorąc pod uwagę stosunkowo niewielkie podobieństwo strukturalne rezystyny mysiej i ludzkiej, wymagają one szczegółowej weryfikacji u ludzi. Ekspresja i sekrecja

rezystyny u człowieka może być regulowana także poprzez szlaki sygnałowe zależne od odporności wrodzonej oraz szlaki związane z aktywacją czynnika transkrypcyjnego NF- κ B [27]. Na poziomie komórkowym ekspresja rezystyny regulowana jest przez receptory aktywowane przez proliferatory peroksosomów (PPAR). Badania dotyczące tkanki tłuszczowej myszy wskazują na istotną rolę receptorów PPAR α i γ we wpływie na ekspresję rezystyny [14, 17]. Aktywacja receptora PPAR α powoduje stymulację ekspresji rezystyny w adipocytach, natomiast pobudzenie receptora PPAR γ wywołuje efekt przeciwny. U człowieka mechanizm działania tych receptorów w regulacji ekspresji rezystyny nie został jeszcze całkowicie poznany. Badania przeprowadzone przez zespół Yannakoulia i wsp. w 2003 roku wskazują również płeć jako czynnik wpływający na ekspresję rezystyny [32]. W warunkach fizjologicznych poziom rezystyny w osoczu kobiet jest wyższy niż u mężczyzn.

TABELA 1. Ekspresja rezystyny na poziomie mRNA i białka w poszczególnych tkankach i narządach organizmu człowieka [23, 28]

TABLE 1. Gene and protein expression of resistin in human tissue

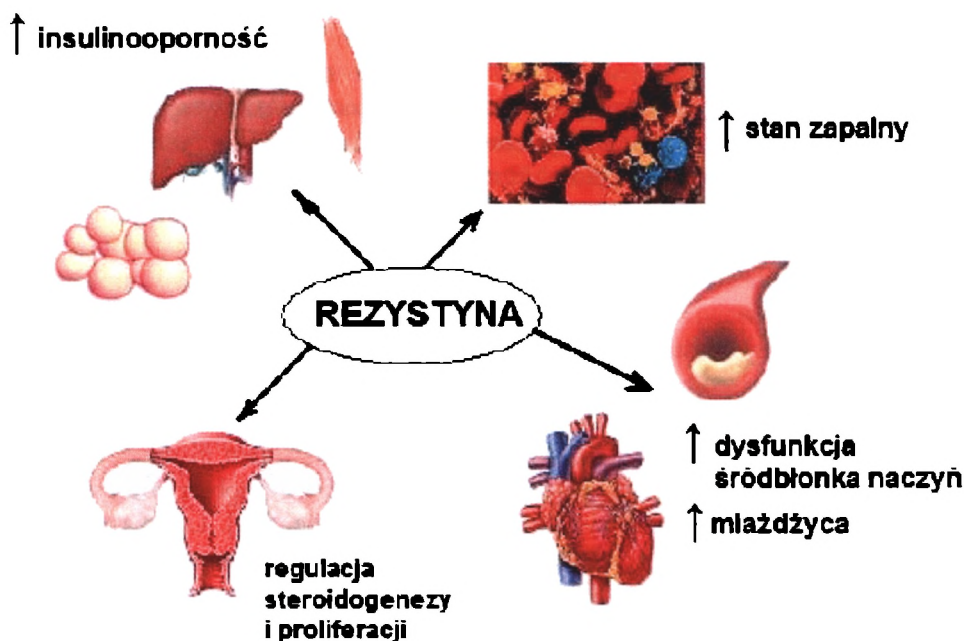
Tkanka / narząd	Ekspresja rezystyny	
	mRNA	białko
biała tkanka tłuszczowa	+	+
preadipocyty	+	+
adipocyty	+	+
jednojądrzaste komórki krwi	---	+
podwzgórze	+	---
przysadka mózgowa	--	--
nadnercza	+	---
śledziona	+	---
mięśnie szkieletowe	+	+
trzustka	+	+
łożysko	+	---
płuca	+	---
przewód pokarmowy	+	---

FUNKCJA REZYSTYNY W ORGANIZMIE

Rola rezystyny w przemianach metabolicznych u człowieka, mimo wielu badań klinicznych, nie została jeszcze w pełni poznana. Sprzeczność otrzymywanych wyników wiąże się prawdopodobnie z innym mechanizmem działania rezystyny w warunkach fizjologicznych i stanach patologicznych, jak i może wynikać z faktu, iż w poszczególnych pracach badano różne izoformy tego hormonu.

Choć na temat narządów docelowych rezystyny wciąż niewiele wiadomo, przeprowadzone dotychczas badania sugerują, że działa ona głównie w wątrobie, białej tkance tłuszczowej i mięśniach szkieletowych. W wątrobie rezystyna zwiększa glukoneogenezę, w mięśniach szkieletowych natomiast, zmniejszając ekspresję GLUT4 (ang. *Glucose Transporter type 4*, transporter glukozy typu 4), hamuje wychwyt glukozy oraz ogranicza metabolizm wolnych kwasów tłuszczowych [3, 13, 36]. Niezaprzeczalny wydaje się związek rezystyny z rozwojem insulinooporności, zaprezentowany na modelu transgenicznych myszy, u których zaobserwowano szereg patofizjologicznych następstw stymulowanej dietą otyłości [41]. Ludzka rezystyna wytwarzana przez makrofagi powodowała gwałtowny rozwój zapalenia w obrębie białej tkanki tłuszczowej (ang. *White Adipose Tissue*, WAT), prowadząc do nasilonej lipolizy i wzrostu stężenia wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy badanych myszy. Lipidy gromadziły się w mięśniach, aktywując szlaki biochemiczne prowadzące do insulinooporności. Fizjologiczną rolą rezystyny jest podtrzymywanie glikemii podczas głodu, a patologiczny efekt wiąże się z powstawaniem nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej, szczególnie w fazie różnicowania się adipocytów [24, 31]. Ponadto wykazano, że hormon ten hamuje różnicowanie i dojrzewanie adipocytów [12, 21].

Badania Chen i wsp. w 2009 roku wykazały istotną zależność między poziomem krążącej rezystyny, a zwiększonym ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 2 [8]. Insulinooporność towarzysząca cukrzycy i otyłości jest czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca. Jak sugerują badania Bo i wsp. [5] jednym z możliwych mechanizmów, poprzez który insulinooporność, otyłość i cukrzyca przyczyniają się do rozwoju miażdżycy, jest wytwarzanie w tkance tłuszczowej licznych cytokin, upośledzających funkcję śródbłonna naczyń oraz indukcję reakcji zapalnej. Liczne badania kliniczne potwierdzają dodatnią korelację między stężeniem rezystyny i markerów zapalnych [5, 30, 44]. Badania *in vitro* wykazały, że rezystyna zwiększa ekspresję cząsteczki adhezji komórkowej naczyń 1 – VCAM-1 (ang. *Vascular Cell Adhesion Molecule 1*) oraz cząsteczki adhezji międzykomórkowej 1 – ICAM-1 (ang. *Intercellular Adhesion Molecule 1*), nasila również wydzielanie białka Mcp-1 oraz aktywuje uwalnianie ET-1 (endotelina, substancja naczyniozwężająca) przez komórki śródbłonna, co wskazuje na jej bezpośredni udział w dysfunkcji śródbłonna i rozwoju blaszki miażdżycowej [20, 49]. Plejotropową funkcję tego hormonu w organizmie ilustruje rycina 1.



RYCINA 1. Złożona funkcja rezystyny w organizmie

FIGURE 1. The complex function of resistin in the organism

RECEPTOR REZYSTYNY

Receptor rezystyny przez długi czas nie został odkryty. Najnowsze badania przeprowadzone przez zespół Daquinag i wsp. w 2011 roku stanowią przełom w poszukiwaniu tego receptora [10]. Dowodzą one, iż rezystyna jest ligandem nieglikowanej izoformy dekorinu (Δ DCN) na powierzchni mezenchymalnych komórek macierzystych białej tkanki tłuszczowej (ang. *Adipose Stromal Cells*, ASCs,). Połączenie rezystyny z Δ DCN reguluje proliferację, różnicowanie oraz migrację komórek ASCs, wpływając na rozwój tkanki tłuszczowej. W celu szczegółowego poznania mechanizmów działania rezystyny na poziomie komórkowym konieczne są dalsze badania nad jej receptorem.

OBECNOŚĆ REZYSTYNY W TKANKACH ROZRODCZYCH SAMIC

Badania ostatnich lat wskazują, że rezystyna, podobnie jak inne hormony metaboliczne wydzielane przez tkankę tłuszczową, wpływa na funkcje rozrodczą samic. Analizując wpływ adiponektyny i leptyny na funkcje rozrodcze samic, sugeruje się, iż działanie rezystyny również odbywa się na poziomie podwzgórza, przysadki mózgowej i gonad [32]. Są to jednak jedynie prawdopodobne drogi działania tej adipocytokiny, a ich ostateczne potwierdzenie i dokładne poznanie wymaga szczegółowych badań. Częściowym potwierdzeniem tych zależności jest wykrycie ekspresji rezystyny na poziomie osi podwzgórze – przysadka mózgowa – jajnik. W 2002 roku grupa Morash i wsp. [34] wykazała ekspresję genu i białka rezystyny w podwzgórzcu i przysadce mózgowej dorosłych samic myszy. W podwzgórzcu największą ekspresję rezystyny zaobserwowano w rozproszonych ciałach komórkowych jądra łukowego, natomiast mniejszą ekspresję w obrębie jąder brzuszno-przysadkowych oraz w grzbietowej części powierzchni przykomorowej. W przysadce mózgowej ekspresję rezystyny zlokalizowano głównie w płacie przednim i środkowym. Ekspresję rezystyny w podwzgórzcu oraz przysadce mózgowej samic myszy i szczurów potwierdziły także inne zespoły badawcze [6, 48, 50].

Ekspresja genu rezystyny w przysadce mózgowej jest ściśle skorelowana z wiekiem osobnika. U nowonarodzonych samic myszy ekspresja genu *Retn* w przysadce mózgowej jest najniższa, tuż przed rozpoczęciem okresu dojrzewania płciowego (około 14 dnia życia) zaczyna wzrastać, osiągając poziom maksymalny między 21-25 dniem życia, następnie do 28 dnia życia gwałtownie spada [34]. Podobne zmiany ekspresji genu rezystyny w przysadce mózgowej zaobserwowano u samców myszy [33]. Indukcja zmian ekspresji genu *Retn* w przysadce mózgowej przed okresem dojrzewania płciowego wymaga sygnału z podwzgórza, czego dowodzą badania przeprowadzone na samicach myszy, u których wykonano farmakologiczną ablację (kontrolowaną degradację) komórek podwzgórza. Prawdopodobny wydaje się zatem udział rezystyny w procesie dojrzewania osi gonadalnej na poziomie podwzgórza i przysadki. W podwzgórzcu ekspresja genu *Retn* utrzymuje się na stałym poziomie przez cały okres rozwoju osobnika – nie ulega zmianom wraz z wiekiem. Poza wiekiem, czynnikami regulującymi ekspresję rezystyny w przysadce mózgowej są także płeć, ilość zapasów energetycznych zgromadzonych w organizmie w postaci tkanki tłuszczowej oraz hormony kory nadnerczy. U myszy ekspresja genu rezystyny w przysadce mózgowej jest znacznie większa u samców niż u samic. Zarówno

u myszy otyłych (ob/ob) jak i traktowanych 24-godzinnym postem zaobserwowano obniżoną ekspresję genu *Retn* w przysadce mózgowej w porównaniu z próbą kontrolną. W okresie pokwitania ekspresja rezystyny w przysadce mózgowej jest silnie stymulowana przez kortykosteroidy [6].

Wykazanie ekspresji rezystyny w takich narządach jak podwzgórze czy przysadka mózgowa skłoniło naukowców do prowadzenia dalszych badań nad ekspresją tego hormonu również w innych tkankach takich jak jajnik. W 2011 roku zespół Maillard i wsp. [29] wykazał ekspresję genu i białka rezystyny w wielu strukturach jajnika krowy i szczura (tab. 2). Ekspresję genu rezystyny w całym jajniku szczura potwierdzili również w swoich badaniach Jones i wsp. w 2009 roku [22]. W jajniku krowy ekspresja genu rezystyny w komórkach ziarnistych małych pęcherzyków jajnikowych izolowanych tuż po pobraniu z jajnika jest około pięciokrotnie wyższa niż w komórkach hodowanych *in vitro* przez 24 godziny [29]. Natomiast w jajniku szczura ekspresja genu rezystyny jest niska w świeżo izolowanych komórkach ziarnistych pęcherzyków jajnikowych. Badania prowadzone na izolowanych pęcherzykach jajnikowych świni wykazały ekspresję genu i białka rezystyny w jajnikach zwierząt przed osiągnięciem dojrzałości płciowej i zwierząt dojrzałych. W badaniach tych wykazano, że zarówno ekspresja jak i stężenie rezystyny w pęcherzykach jajnikowych i płynie pęcherzykowym wzrasta wraz z rozwojem pęcherzyka u niedojrzałych płciowo samic, osiągając najwyższy poziom w dużych pęcherzykach jajnikowych [42], natomiast u zwierząt dojrzałych zarówno ekspresja jak i stężenie rezystyny utrzymuje się na stałym poziomie, niezależnie od wielkości pęcherzyka [43]. Ostatnie badania Niles i wsp. [37] wykazały również obecność rezystyny w komórkach granulozy pęcherzyków przedowulacyjnych kobiet w trakcie zabiegu pozaustrojowego zapłodnienia.

Badania dotyczące stężenia rezystyny w surowicy krwi podczas prawidłowego cyklu menstruacyjnego nie są jednoznaczne. W 2009 roku zespół Asimakopoulou i wsp. [1] stwierdzili wyższe stężenie rezystyny w surowicy krwi w fazie lutealnej (5.30 ± 0.23 ng/ml) w porównaniu z fazą pęcherzykową (4.68 ± 0.07 ng/ml) cyklu miesięczkowego u zdrowych kobiet. Prawdopodobny wydaje się związek wyższego stężenia rezystyny w surowicy krwi podczas fazy lutealnej cyklu miesięczkowego ze stanem zapalnym towarzyszącym owulacji. Potwierdzenie tej hipotezy wymaga jednak określenia ewentualnej korelacji między poziomem rezystyny a poziomem cytokin prozapalnych (m.in. IL-1, IL-6, TNF- α) podczas cyklu menstruacyjnego. Badania Asimakopoulou i wsp. [1] wykazały niewielką korelację między stężeniem rezystyny a stężeniem innych hormonów, takich jak leptyna, FSH, progesteron, glukoza i insulina w surowicy krwi kobiet podczas cyklu miesięczkowego. Opierając się na wynikach wielowymiarowej analizy statystycznej, za istotną statystycznie uznano jedynie dodatnią korelację między stężeniem rezystyny a stężeniem insuliny i progesteronu. Badania przeprowadzone przez Dafopoulou i wsp. [9] nie potwierdziły jednak wyników otrzymanych przez zespół Asimakopoulou.

TABELA 2. Ekspresja rezystyny w jajniku krowy i szczura [29]

TABLE 2. Resistin expression in bovine and rat ovary

Struktura w obrębie jajnika	Ekspresja rezystyny			
	krowa		szczur	
	mRNA	białko	mRNA	białko
małe pęcherzyki jajnikowe	+	+	?	?
duże pęcherzyki jajnikowe	+	+	?	+
komórki osłonki wewnętrznej	?	+	?	+
komórki ziarniste	+	+	---	+
płyn pęcherzykowy	---	+	---	+
komórki pęcherzykowe	+	+	?	+
niedojrzałe oocyty	+	+	?	?
dojrzałe oocyty	+	+	?	+
ciałko żółte	+	+	+	+
cały jajnik	+	+	+	+

Wykazały one natomiast, że poziom rezystyny w surowicy krwi kobiet podczas prawidłowego cyklu miesięczkowego nie ulega znaczącym zmianom, utrzymując się na stałym poziomie około 3.5 ng/ml. Na tej podstawie sugeruje się, iż fizjologiczne zmiany poziomu steroidów płciowych produkowanych w jajnikach w czasie cyklu menstruacyjnego nie wpływają na sekrecję rezystyny w adipocytach. Potwierdzenie tej tezy stanowią badania Chalvatzasa i wsp. z 2009 roku [7], które wykazały, że zarówno przezskórna jak i doustna terapia estrogenowa nie wpływa na stężenie rezystyny w surowicy krwi kobiet w okresie przedmenopauzalnym i pomenopauzalnym. Ponadto, także w przypadku niedoboru endogennych estrogenów poziom rezystyny w surowicy krwi pozostaje niezmienny [7]. Kolejne badania zespołu Honga i wsp. [19] wykazały, że niezależnie od wartości wskaźnika masy ciała BMI (ang. *Body Mass Index*), stężenie rezystyny w surowicy krwi kobiet w czasie cyklu miesięczkowego utrzymuje się na podobnym poziomie jak u kobiet w okresie przedmenopauzalnym i pomenopauzalnym, zarówno zdrowych jak i ze zdiagnozowanym zespołem metabolicznym.

Ekspresję genu i białka rezystyny zaobserwowano również w gruczole sutkowym krowy [26, 29]. Ekspresja mRNA rezystyny w tym gruczole zmniejsza się podczas laktacji. Badania Maillard i wsp. [29] wykazały ekspresję rezystyny na poziomie białka także w macicy i jajowodzie szczura. Ekspresję genu rezystyny wykazano również w ludzkim łożysku, głównie w komórkach trofoblastu [51].

Zaobserwowano także wyższą ekspresję genu rezystyny w łożysku ostatecznym niż w tkance kosmówki w pierwszym trymestrze ciąży. Wzrost ekspresji genu rezystyny w łożysku w miarę rozwoju ciąży prowadzi do obniżenia insulino-wrażliwości i rozwoju hiperглиkemii poposiłkowej u przyszłej matki, wywierając korzystny wpływ na rozwój płodu. Ekspresję rezystyny wykazano również w komórkach syncytiotrofoblastu w rozwiniętym łożysku. Podczas ciąży poziom rezystyny w osoczu krwi wzrasta mimo, iż ekspresja genu rezystyny w tkance tłuszczowej utrzymuje się na stałym, stosunkowo niskim poziomie. Sugeruje się zatem, że komórki łożyska mogą wydzielać rezystynę do krwioobiegu matczyne.

WPLYW REZYSTYNY NA PODSTAWOWE FUNKCJE JAJNIKA

Główny proces zachodzący w obrębie pęcherzyków jajnikowych to steroidogeneza, czyli powstawanie hormonów steroidowych. Aktywność steroidogenna pęcherzyków jajnikowych zależy od wzrostu i różnicowania się komórek budujących pęcherzyk, a jej kierunek zmienia się w zależności od stadium rozwojowego pęcherzyka i fazy cyklu menstruacyjnego. Do momentu przedowulacyjnego wyrzutu LH w pęcherzykach jajnikowych dominuje produkcja androgenów i estrogenów, po tym okresie przeważa sekrecja progesteronu. Klasyczny model steroidogenezy pęcherzykowej opiera się na teorii dwóch komórek i dwóch gonadotropin. Zakłada ona, że prekursorzy androgenne, syntetyzowane w warstwie osłonki wewnętrznej pęcherzyka jajnikowego, pod wpływem LH dyfundują przez błonę podstawną do warstwy ziarnistej, gdzie ulegają aromatyzacji kontrolowanej przez FSH [4]. Zgodnie z tą teorią androgeny ulegają przekształceniu w estrogeny jedynie w komórkach ziarnistych pęcherzyków jajnikowych, gdyż tylko w tych komórkach obecne są enzymy umożliwiające aromatyzację androgenów.

Wyniki dotychczasowych badań jednoznacznie świadczą o wpływie rezystyny na podstawowe procesy zachodzące w pęcherzyku jajnikowym. W zależności od schematu badawczego i modelu doświadczalnego wykazano odmienny wpływ rezystyny na steroidogencę komórek pęcherzyka jajnikowego. Badania Spicera i wsp. [47] wykazały, że w jajniku krowy rezystyna hamuje steroidogenezę w hodowanych komórkach ziarnistych małych pęcherzyków jajnikowych (1-5 mm) oraz obniża proliferację komórek ziarnistych dużych pęcherzyków jajnikowych (8-22 mm). Ponadto analiza ekspresji genów enzymów steroidogennych CYP11A1, CYP19A1, CYP17A1 oraz receptorów folikulotropiny FSHR (ang. *Follicle Stimulating Hormone Receptor*) oraz receptorów lutropiny LHCGR (ang. *Luteinizing Hormone / Choriogonadotropin Receptor*) w pęcherzykach jajnikowych wskazuje, iż rezystyna zmniejsza stymulujący wpływ IGF-1 na ekspresję genów CYP11A1 w ko-

mórkach ziarnistych dużych pęcherzyków jajnikowych, nie wpływa natomiast na ekspresję genów CYP19A1, FSHR oraz LHR w komórkach ziarnistych zarówno małych jak i dużych pęcherzyków jajnikowych. Nie zaobserwowano również wpływu rezystyny na ekspresję genów CYP11A1, CYP17A1 oraz LHCR w komórkach tekalnych pęcherzyków jajnikowych [47]. Z kolei badania Maillard i wsp. [29] prowadzone na komórkach jajnikowych krowy i szczura wykazały, że rezystyna obniża produkcję progesteronu oraz estradiolu w komórkach granulozy krowy, natomiast takiej zależności nie zaobserwowano w przypadku steroidogenezy indukowanej IGF-1. Natomiast w jajniku szczura rezystyna stymuluje zarówno fizjologiczną jak i indukowaną IGF-1 sekrecję progesteronu, nie wpływa na uwalnianie estradiolu w komórkach ziarnistych pęcherzyków jajnikowych [29]. Wykazano również, że w jajniku krowy rezystyna w wysokich stężeniach (100 ng/ml, 333 ng/ml, 667 ng/ml) stymuluje proliferację komórek ziarnistych. W stężeniu fizjologicznym (10 ng/ml) nie stwierdzono jednak takich zmian. Zaobserwowano natomiast, że rezystyna obniża indukowaną IGF-1 proliferację komórek granulozy. Sugeruje się, że to zahamowanie może być częściowo spowodowane inhibicją ekspresji białka cykliny D2, dobrze poznanego markera proliferacji komórek ssaczych [29]. U szczura natomiast nie wykazano wpływu rezystyny na proliferację komórek granulozy pęcherzyków jajnikowych. Badania Maillard i wsp. [29] wykazały również udział rezystyny w regulacji komórkowych szlaków sygnalizacyjnych. U obu gatunków rezystyna intensywnie stymuluje fosforylację kinaz AKT (serynowo-treoninowa kinaza białkowa B) oraz kinazy białkowej aktywowanej miogieniem p38 – MAPK (ang. *p38 Mitogen-Activated Protein Kinase*). Szlaki te zaangażowane są w procesy przeżycia i apoptozy komórek ziarnistych pęcherzyków jajnikowych. Na tej podstawie sugeruje się, że rezystyna poprzez aktywację obu szlaków sygnalizacyjnych bierze udział w regulacji atrezji pęcherzyków jajnikowych. Ponadto w komórkach granulozy jajnika krowy rezystyna stymuluje fosforylację kinazy AMPK α , u szczura natomiast przejściowo wywołuje efekt przeciwny. Jedynie w jajniku szczura stwierdzono wyższą fosforylację kinaz zależnych od sygnału zewnątrzkomórkowego (ang. *Extracellular signal-Regulated Kinase 1/2*, ERK1/2-MAPK) w komórkach ziarnistych pęcherzyków jajnikowych po podaniu rezystyny.

Badania Munira i wsp. [35] wykazały, że rezystyna zwiększa aktywność 17 α -hydroksylazy oraz stymuluje ekspresję genu enzymu CYP17 w komórkach osłonki wewnętrznej pęcherzyków jajnikowych kobiet. Zależności takiej nie zaobserwowano, badając wyłączny wpływ rezystyny na aktywność 17 α -hydroksylazy i ekspresję genu CYP17 w komórkach tekalnych. 17 α -hydroksylaza jest markerem hiperandrogenizmu u kobiet ze zdiagnozowanym zespołem policystycznych jajników (ang. *Polycystic Ovary Syndrome*, PCOS). Stężenie rezystyny w surowicy krwi u kobiet z PCOS jest 40% wyższe w porównaniu ze jej stężeniem u kobiet zdrowych. Schoenchen to wiąże się również z nadekspresją rezystyny w adipocytach [45].

Wyniki ostatnich badań potwierdzają bezpośredni wpływ rezystyny na proces steroidogenezy pęcherzyka jajnikowego. W hodowanych *in vitro* pęcherzykach jajnikowych świń niedojrzałych płciowo rezystyna stymuluje głównie sekrecję progesteronu, androstendionu i testosteronu, podwyższając ekspresję enzymów odpowiedzialnych za ich produkcję tj. CYP11A1, 3 β HSD, CYP17A1 i 17 β HSD [42]. Autorzy wskazują, że rezystyna może być ważnym regulatorem funkcji jajnika w okresie dojrzałości płciowej zwierząt.

PODZIĘKOWANIA

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2012-2014, program *Iuventus Plus* 0447/IP1/2011/71

LITERATURA

- [1] ASIMAKOPOULOS B, MILOUSIS A, GIOKA T, KABOUROMITI G, GIANISSILIS G, TROUSSA A, SIMOPOULOU M, KATERGARI S, TRIPSANIS G, NIKOLETOS N. Serum pattern of circulating adipokines throughout the physiological menstrual cycle. *Endocr J* 2009; **56**: 425-433.
- [2] BANERJEE RR, LAZAR MA. Dimerization of resistin and resistin-like molecules is determined by a single cysteine. *J Biol Chem* 2001; **276**: 25970-25973.
- [3] BANERJEE R, RANGWALA S, SHAPIRO J, RICH A, RHOADES B, QI Y, WANG J, RAJALA M, POCAI A, SCHERER P, STEPPAN C, AHIMA R, OBICI S, ROSSETTI L, LAZAR M. Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science* 2004; **303**: 1195-1198.
- [4] BŁASZCZYK B. Specyfika folikulogenezy i steroidogenezy jajnikowej świni domowej. *Kosmos* 2008; **57**: 157-163.
- [5] BO S, GAMBINO R, PAGANI A, GUIDI S, GENTILE L, CASSADER M, PAGANO GF. Relationships between human serum resistin, inflammatory markers and insulin resistance. *Int J Obes* 2005; **29**: 1315-1320.
- [6] BROWN R, WIESNER G, UR E, WILKINSON M. Pituitary resistin gene expression is upregulated in vitro and in vivo by dexamethasone but is unaffected by rosiglitazone. *Neuroendocrinology* 2005; **81**: 41-48.
- [7] CHALVATZAS N, DAFOPOULOS K, KOSMAS G, KALLITSARIS A, POURNARAS S, MESSINIS IE. Effect of ovarian hormones on serum adiponectin and resistin concentrations. *Fertil Steril* 2009; **91**: 1189-1194.
- [8] CHEN BH, SONG Y, DING EL, ROBERTS CK, MANSON JE, RIFAI N, BURING JE, GAZIANO JM, LIU S. Circulating levels of resistin and risk of type 2 diabetes in men and women: results from two prospective cohorts. *Diabetes Care* 2009; **32**: 329-334.
- [9] DAFOPOULOS K, SOURLAS D, KALLITSARIS A, POURNARAS S, MESSINIS IE. Blood ghrelin, resistin and adiponectin concentrations during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril* 2009; **92**: 1389-1394.
- [10] DAQUINAG AC, ZHANG Y, AMAYA-MANZANARES F, SIMMONS PJ, KOLONIN MG. An isoform of decorin is a resistin receptor on the surface of adipose progenitor cells. *Cell Stem Cell* 2011; **9**: 74-86.
- [11] FAIN JN, CHEEMA PS, BAHOUTH SW, LLOYD HILER M. Resistin release by human adipose tissue explants in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **300**: 674-678.
- [12] FERNANDEZ CM, DEL ARCO A, GALLARDO N, AGUADO L, RODRIGUEZ M, ROS M, CARRASCOSA JM, ANDRES A, ARRIBAS C. S-resistin inhibits adipocyte differentiation and increases TNF α expression and secretion in 3T3-L1 cells. *Biochim Biophys Acta* 2010; **1803**: 1131-1141.
- [13] FU Y, LUO L, LUO N, GARVEY WT. Proinflammatory cytokine production and insulin sensitivity regulated by overexpression of resistin in 3T3-L1 adipocytes. *Nutr Metab* 2006; **3**: 28.

- [14] FUKUI Y, MOTOJIMA K. Expression of resistin in the adipose tissue is modulated by various factors including peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Diabetes Obes Metab* 2002; **4**: 342-345.
- [15] GACIUNG Z. Czy adipocytkiny wywołują nadciśnienie? *Kardiologia Polska* 2010; **68**: 761-762.
- [16] GHOSH S, SINGH AK, ARUNA B, MUKHOPADHYAY S, EHTESHAM NZ. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene* 2003; **305**: 27-34.
- [17] HARTMAN HB, HU X, TYLER KX, DALAL CK, LAZAR MA. Mechanisms regulating adipocyte expression of resistin. *J Biol Chem* 2002; **277**: 19754-19761.
- [18] HOLCOMB IN, KABAKOFF RC, CHAN B, BAKER TW, GURNEY A, HENZEL W, NELSON C, LOWMAN WRIGHT BD, SKELTON NJ, FRANTZ GD, TUMAS DB, PEALE FV JR, SHELTON DL, HEBERT HB, CC. FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. *EMBO J* 2000; **19**: 4046-4055.
- [19] HONG SC, YOO SW, CHO GJ, KIM T, HUR JY, PARK YK. Correlation between estrogens and serum adipocytokines in premenopausal and postmenopausal women. *Menopause* 2007; **14**: 835-840.
- [20] HSU WY, CHAO YW, TSAI YL, LIEN CC, CHANG CF, DENG MC, HO LT, KWOK CF, JUAN CC. Resistin induces monocyte-endothelial cell adhesion by increasing ICAM-1 and VCAM-1 expression in endothelial cells via p38MAPK-dependent pathway. *J Cell Physiol* 2011; **226**: 2181-2188.
- [21] IKEDA Y, HAMA S, KAJIMOTO K, OKUNO T, TSUCHIYA H, KOGURE K. Quantitative comparison of adipocytokine gene expression during adipocyte maturation in non-obese and obese rats. *Biol Pharm Bull* 2011; **34**: 865-870.
- [22] JONES AM, RODGERS J, ANTIBUS D, KNOOP A, BRUOT B, MARCINKIEWICZ J. Relative ovarian resistin expression in normal cycling rats and rats with cystic ovaries. *Biol Reprod* 2009; **81**: 532.
- [23] KARBOWSKA A, BORATYNSKA M, KLINGER M. Rezystyna – czynnik patogenetyczny czy biomarker zaburzeń metabolicznych i zapalenia? *Postępy Hig Med Dosw* 2009; **63**: 485-491.
- [24] KERSHAW E, FLIER J. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 2548-2556.
- [25] KOCHAN Z, KARBOWSKA J. Wydzielnicza funkcja tkanki tłuszczowej. *Postępy Biochem* 2004; **50**: 256-271.
- [26] KOMATSU T, ITOH F, MIKAWA S, HODATE K. Gene expression of resistin in adipose tissue and mammary gland of lactating and non-lactating cows. *J Endocrinol* 2003; **178**: 1-5.
- [27] KUSMINSKI CM, DA SILVA NF, CREELY SJ, FISHER FM, HARTE AL, BAKER AR, KUMAR S, MCERNAN PG. The in vitro effects of resistin on the innate immune signaling pathway in isolated human subcutaneous adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; **92**: 270-276.
- [28] KUSMINSKI CM, MCERNAN PG, KUMAR S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci* 2005; **109**: 243-256.
- [29] MAILLARD V, FROMENT P, RAME C, UZBEKOVA S, ELIS S, DUPONT J. Expression and effect of resistin on bovine and rat granulosa cell steroidogenesis and proliferation. *Reproduction* 2011; **141**: 467-479.
- [30] MAKNI E, MOALLA W, BENEZZEDDINE-BOUSSAIDI L, LAC G, TABKA Z, ELLOUMI M. Correlation of resistin with inflammatory and cardiometabolic markers in obese adolescents with and without metabolic syndrome. *Obes Facts* 2013; **6**: 393-404.
- [31] MEIER U, GRESSNER AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin and resistin. *Clin Chem* 2004; **50**: 1511-1525.
- [32] MITCHELL M, ARMSTRONG DT, ROBKER RL, NORMAN RJ. Adipokines: implications for female fertility and obesity. *Reproduction* 2005; **130**: 583-597.
- [33] MORASH BA, UR E, WIESNER G, ROY J, WILKINSON M. Pituitary resistin gene expression: effects of age, gender and obesity. *Neuroendocrinology* 2004; **79**: 149-156.
- [34] MORASH BA, WILKINSON D, UR E, WILKINSON M. Resistin expression and regulation in mouse pituitary. *FEBS Lett* 2002; **526**: 26-30.
- [35] MUNIR I, YEN HW, BARUTH T, TARKOWSKI R, AZZIZ R, MAGOFFIN DA, JAKIMIUK AJ. Resistin stimulation of 17 α -hydroxylase activity in ovarian theca cells in vitro: relevance to polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**: 4852-4857.

- [36] MUSE ED, OBICI S, BHANOT S, MONIA BP, MCKAY RA, RAJALA MW, SCHERER PE, ROSSETTI L: Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* 2004; **114**: 232-239.
- [37] NILES LP, LOBB DK, KANG NH, ARMSTRONG KJ. Resistin expression in human granulosa cells. *Endocrine* 2012; **42**: 742-745.
- [38] PANG S, LE Y. Role of resistin in inflammation and inflammation – related diseases. *Cell Mol Immunol* 2006; **3**: 29-34.
- [39] PATEL L, BUCKELS AC, KINGHORN IJ, MURDOCK PR, HOLBROOK JD, PLUMPTON C, MACPHEE CH, SMITH SA. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **300**: 472-476.
- [40] PATEL SD, RAJALA MW, ROSSETTI L, SCHERER PE, SHAPIRO L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science* 2004; **304**: 1154-1158.
- [41] QATANANI M, SZWARGOLD NR, GREAVES DR, AHIMA RS, LAZAR MA. Macrophage-derived human resistin exacerbates adipose tissue inflammation and insulin resistance in mice. *J Clin Invest* 2009; **119**: 531-539.
- [42] RAK-MARDYŁA A, DURAK M, GREGORASZCZUK EL. Effects of resistin on porcine ovarian follicle steroidogenesis in prepubertal animals: an in vitro study. *Reprod Biol Endocrinol* 2013; **11**: 45.
- [43] RAK-MARDYŁA A, PTAK A, GREGORASZCZUK EL. Immunoassay – a standard method to study the concentration of peptide hormones in reproductive tissues in vitro. [w] Abuelzein E *Trends in Immunolabelled and Related Techniques*, chapter 17, 2012: 275-297.
- [44] REILLY MP, LEHRKE M, WOLFE ML, ROHATGI A, LAZAR MA, RADER DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005; **111**: 932-939.
- [45] SEOW KM, JUAN CC, WU LY, HSU YP, YANG WM, TSAI YL, HWANG JL, HO LT. Serum and adipocyte resistin in polycystic ovary syndrome with insulin resistance. *Hum Reprod* 2004; **19**: 48-53.
- [46] SKOWRONSKA B, FICHNA M, FICHNA P. Rola tkanki tłuszczowej w układzie dokrewnym. *Endokrynol Otyłość* 2005; **1**: 21-29.
- [47] SPICER LJ, SCHREIBER NB, LAGALY DV, AAD PY, DOUTHIT LB, GRADO-AHUIR JA. Effect of resistin on granulosa and theca cell function in cattle. *Anim Reprod Sci* 2011; **124**: 19-27.
- [48] TOVAR S, NOGUEIRAS R, TUNG LY, CASTANEDA TR, VAZQUEZ MJ, MORRIS A, WILLIAMS LM, DICKSON SL, DIEGUEZ C. Central administration of resistin promotes short-term satiety in rats. *Eur J Endocrinol* 2005; **153**: 1-5.
- [49] VERMA S, LI SH, WANG CH, FEDAK PW, LI RK, WEISEL RD, MICKLE DA. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation* 2003; **108**: 736-740.
- [50] WILKINSON M, WILKINSON D, WIESNER G, MORASH B, UR E. Hypothalamic resistin immunoreactivity is reduced by obesity in the mouse: co-localization with alpha-melanostimulating hormone. *Neuroendocrinology* 2005; **81**: 19-30.
- [51] YURA S, SAGAWA N, ITOH H, KAKUI K, NUAMAH MA, KORITA D, TAKEMURA M, FUJII S. Resistin is expressed in the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 1394-1397.
- [52] ZDROJEWICZ Z, KWIECINSKA D. Rezystyna – nowy hormon tkanki tłuszczowej. *Adv Clin Exp Med* 2003; **12**: 665-668.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 29.07.2013

Przyjęto: 02.09.13

Agnieszka Rak-Mardyla

Zakład Fizjologii i Toksykologii Rozrodu

Instytut Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

ul. Gronostajowa 9, 30-387 Kraków

tel.: 12 664 59 57

fax: 12 664 51 01

e-mail: agnieszka.rak@uj.edu.pl